

RELATO DE CASO

Opções reprodutivas para pacientes com epidermólise bolhosa distrófica

Reproductive alternatives for patients with dystrophic epidermolysis bullosa

Denise Maria Christofolini^{1,2}, José Ricardo Magliocco Ceroni², Giovanna Guimarães Soares³, Gustavo Bertolini Lamy³, Ana Carolina Nemeth Calvo³, Tamara Alba dos Santos³, Bianca Del Bel Sonoda³, Bianca Bianco^{1,2}, Caio Parente Barbosa^{1,2}

¹ Departamento de Saúde da Coletividade, Faculdade de Medicina do ABC, Santo André, SP, Brasil.

² Instituto Ideia Fértil de Saúde Reprodutiva, Santo André, SP, Brasil.

³ Faculdade de Medicina do ABC, Santo André, SP, Brasil.

DOI: 10.31744/einstein_journal/2019RC4577

RESUMO

O termo “epidermólise bolhosa” descreve um grupo de afecções cutâneas causadas por mutações em genes que codificam proteínas relacionadas à aderência dermoepidérmica. Nos Estados Unidos, estima-se a ocorrência de 50 casos de epidermólise bolhosa por 1 milhão de nascidos vivos, sendo 92% deles da forma simples, 5% da forma distrófica, 1% da forma juncional e 2% não classificados. A epidermólise bolhosa do tipo distrófica foi associada a padrões autossômicos, dominante e recessivo. A epidermólise bolhosa causa sérios impactos psicológicos, econômicos e sociais, e não há tratamento curativo atualmente — apenas controle dos sintomas. A seleção embrionária é disponível para portadores de epidermólise bolhosa, a fim de evitar a perpetuação da condição em seus descendentes.

Descritores: Epidermólise bolhosa distrófica; Colágeno tipo VII; Membrana basal; Hereditariedade; Aconselhamento genético

ABSTRACT

Epidermolysis bullosa describes a group of skin conditions caused by mutations in genes encoding proteins related to dermal-epidermal adhesion. In the United States, 50 cases of epidermolysis bullosa per 1 million live births are estimated, 92% of which classified as simplex, 5% dystrophic, 1% junctional and 2% non-classified. Dystrophic epidermolysis bullosa is associated with autosomal, dominant and recessive inheritance. Epidermolysis bullosa causes severe psychological, economic and social impacts, and there is currently no curative therapy, only symptom control. Embryonic selection is available for epidermolysis bullosa patients in order to prevent perpetuation of the condition in their offspring.

Keywords: Epidermolysis bullosa dystrophica; Collagen type VII; Basement membrane; Heredity; Genetic counseling

INTRODUÇÃO

O termo “epidermólise bolhosa” (EB) hereditária compreende um conjunto de afecções dermatológicas caracterizadas pelo aparecimento de dermatoses mecanobolhosas em resposta ao trauma mínimo, limitadas à pele e/ou às mucosas.⁽¹⁾ Há quatro categorias principais (simples, distrófica, juncional e síndrome de Kindler) classificadas de acordo com o nível de separação do

Como citar este artigo:

Christofolini DM, Ceroni JR, Soares GG, Lamy GB, Calvo AC, Santos TA, et al. Opções reprodutivas para pacientes com epidermólise bolhosa distrófica. *einstein* (São Paulo). 2019;17(3):eRC4577. http://dx.doi.org/10.31744/einstein_journal/2019RC4577

Autor correspondente:

Denise Maria Christofolini
Avenida Lauro Gomes, 2.000
Edifício CEPES, sala 101 – Vila Sacadura Cabral
CEP: 09060-870 – Santo André, SP, Brasil
Tel.: (11) 4993-5464
E-mail: denise.christofolini@fmabc.br

Data de submissão:

18/6/2018

Data de aceite:

20/12/2018

Copyright 2019



Esta obra está licenciada sob
uma Licença *Creative Commons*
Atribuição 4.0 Internacional.

tecido na zona da membrana basal observado por microscopia de transmissão eletrônica e mapeamento por imunofluorescência indireta.^(2,3) Na forma simples, a separação ocorre nos queratinócitos basais; na forma distrófica, a separação ocorre na derme abaixo da lâmina densa da zona de membrana basal (ZMB); e, na forma juncional, a separação ocorre na lâmina lúcida da ZMB.⁽²⁾ Além disso, os subtipos de EB podem ser classificados de acordo com o modo de transmissão, a gravidade clínica e os achados moleculares.⁽⁴⁾

Variantes patogênicas em 20 diferentes genes que causam mudança na aderência entre os queratinócitos ou na junção dermoepidérmica levam à heterogeneidade genética e alélica observada em EB.⁽⁴⁾ O grande espectro fenotípico dos pacientes varia desde o envolvimento cutâneo e extracutâneo grave, causado pela ausência de proteínas de adesão (devido a mutações de perda de função), até a fragilidade cutânea moderada, causada por defeitos moleculares mais simples, como a substituição de aminoácidos.⁽³⁾ Novos genes e mecanismos associados à condição são publicados regularmente.⁽⁴⁾

A EB simples (EBS) tem padrão de herança autossômico dominante na maior parte dos casos e ocorre em consequência de variações em 14 genes diferentes, sendo *KRT14* e *KRT5* responsáveis por 60 a 70% dos casos de EBS. Os pacientes podem apresentar bolhas localizadas, generalizadas, intermediárias ou graves.⁽⁴⁾ A forma recessiva da EBS é causada por mutações no gene da plectina (*PLEC*).⁽²⁾ A maioria dos casos recessivos caracteriza-se por bolhas generalizadas e distrofia muscular, com fraqueza muscular observada na primeira década de vida.⁽²⁾

A EB distrófica (EBD) tem como característica clínica principal a presença de bolhas tensas serosas ou hemorrágicas que evoluem para cicatrizes. Pode apresentar padrão de herança autossômico recessivo ou a forma autossômica dominante. Todas as formas estão associadas a variações no gene *COL7A1*, responsável pela codificação do colágeno tipo VII.⁽⁵⁾

Todas as formas de EB juncional (EBJ) são herdadas de forma autossômica recessiva. São causadas por variações nos genes *LAMA3*, *LAMB3*, *LAMC2*, *COL17A1*, *ITGA6*, *ITGB4* e *ITGA3*. O fenótipo varia de acordo com o gene e as variações observadas.⁽³⁾

Na síndrome de Kindler, observam-se como características fenotípicas bolhas localizadas ou generalizadas, poiquiloderma, fotossensibilidade e envolvimento de membranas mucosas. É causada por variações no gene *FERMT1*, que codifica a proteína Kindlin-1, com padrão de herança autossômico recessivo.⁽³⁾

Assim, o diagnóstico de EB é determinado por análise clínica e anatomopatológica. No entanto, para

o aconselhamento genético reprodutivo e a realização da investigação genética embrionária, é fundamental conhecer a mutação responsável pela condição e seu padrão de herança.

RELATO DE CASO

Paciente do sexo feminino, 28 anos, procurou aconselhamento genético por diagnóstico clínico de EB e desejo de evitar a propagação para seus descendentes. Referiu pai e irmã com a doença e negou consanguinidade entre os pais. Os três apresentam história de bolhas recorrentes em mãos e pés, precipitadas por trauma, unhas distróficas, cicatrizes atróficas, lesões em mucosa e milia. Os pacientes não apresentavam envolvimento oftalmológico, gastrointestinal ou fusão de dedos.

Foram solicitados sequenciamento dos genes *KRT5* e *KRT14* (associados à forma simples) pela metodologia de Sanger, biópsia das lesões e investigação anatomopatológica. O conhecimento da mutação específica é fundamental para a realização da análise genética embrionária, chamada *pré-implantation genetic diagnosis* (PGD) e atualmente denominada *pré-implantation genetic testing-monogenic* (PGT-M).

Não foram observadas variantes patogênicas nos genes *KRT5* e *KRT14*. A biópsia mostrou anticorpos positivos contra antígeno penfigoide bolhoso, laminina-1 e colágenos tipos IV e VII, sugerindo EBD. Foi realizado o sequenciamento dos éxons 73 ao 76 do gene *COL7A1*, pela metodologia de Sanger, que demonstrou a presença da variante patogênica c.6182G>A p.Gly2061Glu (NM_000094) em heterozigose, confirmando o resultado da biópsia. A pesquisa dos éxons 73 ao 76 do gene *COL7A1* foi realizada nos demais membros afetados da família, e a mesma variante patogênica foi observada em heterozigose.

Foi realizado o estudo de ligação da mutação a marcadores do tipo STR próximos a esta, para a realização da análise embrionária. O teste desenvolvido por um laboratório externo é uma combinação de estudo genético direto (por amplificação por reação em cadeia da polimerase – PCR – da sequência do *COL7A1*) e indireto (amplificação por PCR dos marcadores polimórficos ligados ao gene *COL7A1* – 5': D3S1568, D3S3629, D3S2384; 3': D3S1581, D3S2420 e D3S1767), utilizando PCR multiplex fluorescente. A análise de fragmentos dos produtos de PCR foi realizada por eletroforese capilar (EC) por meio do AB 3130 (ThermoFisher).

O casal foi submetido ao tratamento de reprodução assistida com injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI). A estimulação ovariana foi realizada utilizando-se 200UI de hormônio foliculo-estimulante (FSH) recombinante, a partir do segundo dia do ciclo

menstrual. Quando o maior folículo atingiu 14mm, foi associado ao tratamento o antagonista do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH). Quando os folículos maiores atingiram 17mm, uma dose de 5000IU de gonadotrofina coriônica humana foi administrada, e 36 horas depois foi feita a captação de oócitos. Nos dois ciclos, foram recuperados 15 oócitos maduros, que resultaram em 4 embriões biopsiados e vitrificados (3 alcançaram o estágio de blastocisto em d5 e 1 em d6). As biópias realizadas foram criopreservadas e aguardam a análise genética embrionária.

DISCUSSÃO

O diagnóstico da EB é realizado a partir de achados clínicos e laboratoriais, sendo a imuno-histoquímica essencial para verificar o subtipo da doença, pois cada variante apresenta prognóstico e riscos diferentes.⁽⁶⁾

Clinicamente, a família indicava ter a forma simples, visto que esta forma predominantemente apresenta transmissão dominante e acomete mãos, pés e mucosas. A análise imuno-histoquímica, porém, reclassificou como forma distrófica, compatível com variações no gene *COL7A1*, corroborando achados moleculares (c.6182G>A). O padrão dominante de herança e a menor complexidade de apresentação clínica, que remetem à forma simples, complicaram a avaliação.

O gene *COL7A1* (gene ID: 1294), localizado em 3p21.3, codifica a cadeia alfa 1 do colágeno 7, que, por sua vez, é composto por três cadeias alfa idênticas, sendo o maior componente estrutural das fibrilas de ancoramento da junção dermoepidérmica. Variações neste gene estão associadas a todas as formas de EBD. O códon 2061 deste gene está localizado em região altamente conservada do domínio de tripla hélice. Análise pela ferramenta *in silico MutationTaster*, que prediz o possível efeito da mutação na proteína, classificou-a como patogênica. No entanto, esta mutação não está reportada nem no ClinVar nem no ExAC. Só há um relato desta variante no banco de dados HGMD®, que é o mesmo presente no registro internacional de pacientes com EBD.⁽⁷⁾ Interessantemente, neste relato, o alelo variante (6182A) foi observado em heterozigose composta com outro alelo do gene *COL7A1* (uma mutação no íntron 116 com potencial alteração de *splicing*) e apresentação clínica mais grave.⁽⁷⁾

É comum casais com história familiar de EB procurarem avaliação pré-conceptiva. Neste contexto, o PGT-M é um procedimento seguro e bem estabelecido para evitar transmissibilidade de doenças hereditárias graves, sendo alternativa ao diagnóstico pré-natal e

interrupção da gravidez. Ao identificar o tipo de EB, o aconselhamento genético auxilia a esclarecer o padrão de herança na família e orienta quanto ao risco de acometimento da prole. Uma vez identificado, é possível a realização do PGT-M, permitindo a seleção e a transferência de embriões livres das mutações.⁽⁸⁾

CONCLUSÃO

Levando em consideração achados clínicos, análise imuno-histoquímica, sequenciamento gênico e segregação alélica familiar, foi possível reclassificar a epidermólise bolhosa na variante distrófica com padrão de herança autossômico dominante, permitindo realizar um diagnóstico pré-implantacional, para selecionar embriões livres da variante.

INFORMAÇÃO DOS AUTORES

Christofolini DM: <http://orcid.org/0000-0001-9589-6417>

Ceroni JR: <http://orcid.org/0000-0001-6192-5339>

Soares GG: <http://orcid.org/0000-0003-2984-9078>

Lamy GB: <http://orcid.org/0000-0001-9976-1739>

Calvo AC: <http://orcid.org/0000-0001-7470-4703>

Santos TA: <http://orcid.org/0000-0002-2551-4708>

Sonoda BD: <http://orcid.org/0000-0001-6398-9176>

Bianco B: <http://orcid.org/0000-0001-8669-3562>

Barbosa CP: <http://orcid.org/0000-0002-2922-0264>

REFERÊNCIAS

1. Sampaio SA, Rivitti EA. Dermatologia. 3a ed. São Paulo: Artes Médicas; 2007. p. 1063-72.
2. Sawamura D, Nakano H, Matsuzaki Y. Overview of epidermolysis bullosa. J Dermatol. 2010;37(3):214-9. Review.
3. Has C, Fischer J. Inherited epidermolysis bullosa: new diagnostics and new clinical phenotypes. Exp Dermatol. 2018 Apr 20. doi: 10.1111/exd.13668. [Epub ahead of print]. Review.
4. Fine JD, Bruckner-Tuderman L, Eady RA, Bauer EA, Bauer JW, Has C, et al. Inherited epidermolysis bullosa: updated recommendations on diagnosis and classification. J Am Acad Dermatol. 2014;70(6):1103-26.
5. Cserhalmi-Friedman PB, Tang Y, Adler A, Krey L, Grifo JA, Christiano AM. Preimplantation genetic diagnosis in two families at risk for recurrence of Herlitz junctional epidermolysis bullosa. Exp Dermatol. 2000;9(4):290-7.
6. Oliveira ZN, Périgo AM, Fukumori LM, Aoki V. Immunological mapping in hereditary epidermolysis bullosa. An Bras Dermatol. 2010;85(6):856-61. Review.
7. Chao SC, Lee JY. Mutation analyses of COL7A1 gene in three Taiwanese patients with severe recessive dystrophic epidermolysis bullosa. J Formos Med Assoc. 2007;106(1):86-91.
8. Vendrell X, Bautista-Llácer R, Alberola TM, García-Mengual E, Pardo M, Urries A, et al. Pregnancy after PGD for recessive dystrophic epidermolysis bullosa inversa: genetics and preimplantation genetics. J Assist Reprod Genet. 2011;28(9):825-32.